

UJI TOKSISITAS SUB KRONIK EKSTRAK DAUN KEMBANG SUNGSANG (*Gloriosa superba* L.) TERHADAP FUNGSI GINJAL TIKUS PUTIH

M. Wien Winarno¹; Dian Sundari²

¹ Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi Jakarta

² Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi dan Makanan Bogor

SUB-CHRONIC TOXICITY TEST KEMBANG SUNGSANG LEAF EXTRACT (*Gloriosa superba* L.) ON RENAL FUNCTION OF WHITE RATS

Abstract. *Kembang sungsang (Gloriosa superba L.) including families Colchicaceae, empirically this plant can be used to treat gout, diuretic, rheumatic and cultivated because of its use. All parts of this plant contain alkaloids called colchichin and gloriosin and most found on the tuber. From the results of previous research, the ethanol extract of leaves and flowers antihiperurisemia Breech is included in the class materials "Practically Non-Toxic." However, repeated administration may cause toxic effects on body organs. Test the effect of 70% ethanol extract of kembang sungsang leaves of kidney function in male and female white rats. There are 3 (three) doses of test materials which are: 32.25 mg, 21.5 mg and 14.35 mg/100 g bw., And as a control was distilled water. Test and control material was administered orally in accordance with a predetermined time is 45 days, 90 days and 104 days (recovery period for the largest dose) administration. Observation is done by sacrificing mice according to given deadlines. Results of blood biochemistry analysis showed that drug therapy for 45 days, to increase blood urea and creatinine, but the award of 90 and 104 days (recovery) decreased creatinine levels.*

Keywords: *Toxicity, Kembang Sungsang, Gloriosa superba L. Kidney function*

PENDAHULUAN

Tanaman kembang sungsang (*Gloriosa superba* L) termasuk famili Colchicaceae. Secara empiris tanaman ini dapat digunakan untuk pengobatan gout, diuretik, reumatik dan lain lain. Merupakan tumbuhan herba merambat dengan tinggi mencapai 2 m, hidup di hutan, di ladang, pekarangan sebagai tanaman hias karena bungannya yang berwarna merah kekuning-kuningan. Dapat hidup mencapai ketinggian lebih kurang 2500 m diatas permukaan laut. Seluruh bagian tanaman ini mengandung alkaloid yang disebut

colchichin dan gloriosin, dan terbanyak ditemukan pada umbinya⁽¹⁾.

Penelitian dari umbi kembang sungsang banyak dilakukan, sedangkan pada penelitian disini dilakukan terhadap daunnya. Khasiat obat tradisional dapat disebabkan karena senyawa kimia yang terkandung didalamnya, disisi lain dapat pula menyebabkan adanya efek toksik. Untuk mengetahui derajat keamanan suatu zat, diperlukan beberapa penelitian antara lain toksisitas akut, toksisitas sub kronik, karsinogenik, teratogenik dan mutagenik. Dari hasil penelitian terdahulu ekstrak etanol 70% daun kembang sungsang

berkhasiat antihiperurisemia. Pada dosis 21,5 mg ekstrak kembang sunsang yang diberikan pada tikus secara oral dapat penurunan kadar asam urat yang tidak berbeda dengan alupurinol. Dari uji fitokimia didapatkan kandungan kolcisin dengan kadar total 0,44%. Ekstrak etanol 70% daun kembang sunsang mempunyai nilai tok-sitas akut (LD_{50}) sebesar 4,579 (3,6375 - 5 5765) mg/10g bb. i.p mencit atau 32053 (25462,5 - 39035,5) mg/kg bb. oral tikus yang menurut kriteria Gleason termasuk golongan bahan "Practically Non Toxic" (>15000 mg/kg bb oral tikus) ⁽²⁾. Namun demikian pemberian secara berulang mungkin saja dapat menimbulkan efek toksik pada organ tubuh. Untuk mengetahui pengaruh terhadap organ tubuh dilakukan uji toksisitas sub kronis yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kembang sunsang selama 6 minggu, 12 minggu secara terus menerus. Pengukuran dilakukan terhadap kadar ureum dan kreatinin ^(3,4).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek toksik akibat pemberian ekstrak etanol 70% daun kembang sunsang yang diberikan secara berulang selama 45 hari, 90 hari. Untuk mengetahui *recovery* pemberian berulang, hewan coba didiamkan selama 104 hari.

BAHAN DAN CARA

Bahan

Daun kembang sunsang yang didapat dari BBPPTOOT, Tawangmangu, Jawa Tengah. Bahan dicuci bersih kemudian dikeringkan dalam oven pada panas tidak lebih dari 40°C, setelah kering kemudian diserbuk dan diayak dengan ayakan Mesh no.40. Ekstrak dibuat dengan cara perkolasi menggunakan pelarut etanol 70% sesuai Parameter Standart Umum

Ekstrak Tumbuhan Obat, Ditjen POM Departemen Kesehatan R.I ⁽⁵⁾.

Hewan coba

Tikus putih (*Rattus novergitus*) strain Wistar sebanyak 100 ekor terdiri dari jenis kelamin jantan dan betina dengan berat badan antara 150 - 200 gram, berasal dari Laboratorium Hewan Coba, Puslit-bang Biomedis dan Farmasi. Sebelum percobaan hewan coba diaklimasi dalam laboratorium hewan selama 1 minggu. Pembagian kelompok hewan coba terdiri dari satu kelompok kontrol (akuades) dan tiga kelompok dosis bahan uji dengan tingkatan yang berbeda. Dosis kecil adalah dosis yang tidak memberikan efek toksik (14,35 mg/100 g bb.); dosis sedang adalah dosis yang memberikan efek farmakologis (21,5 mg/100 g bb.); dan dosis besar adalah dosis yang mungkin dapat memberikan efek toksik tetapi tidak sampai membunuh hewan coba (32,25 mg/100 g bb.).

Cara

Pembuatan ekstrak

Serbuk simplisia daun kembang sunsang ditimbang kurang lebih 250 gram, ulangi penimbangan sesuai banyaknya botol/wadah perkolator. Basahi serbuk dengan pelarut etanol 70% kemudian diamkan selama 4 jam dalam wadah tertutup. Kemudian dimasukkan kedalam perkolator dari gelas, ditambah pelarut dan pelarut dialirkan hingga kebawah sedemikian rupa sehingga diatas permukaan masih tersisa pelarut $\pm 0,5$ cm, diamkan selama 24 jam. Kemudian kran perkolator dibuka, dibiarkan mengalir dengan kecepatan alir ± 40 tetes/detik. Tambahkan pelarut sedemikian rupa, sehingga pelarut diatas permukaan bahan dipertahankan kurang lebih 0,5 cm. Ekstrak cair yang telah diperoleh diuapkan dalam cawan porselin yang telah ditara, kemudian diuapkan diatas penangas air dengan suhu $\pm 40^{\circ}$

C, hingga etanol menguap dan diperoleh ekstrak kental. Rendemen dihitung dari berat ekstrak kental yang dihasilkan dibagi dengan berat simplisia, dikalikan 100%.

Hewan coba

Tikus putih sebanyak 100 ekor yang terdiri dari 50 ekor jantan dan 50 ekor betina ditimbang dan dibagi menurut kelompok dosis perlakuan (3 kelompok) setiap kelompok berisi 5 ekor. Pembagian kelompok perlakuan dan lama pemberian dapat dilihat pada Tabel 1.

Bahan uji diberikan secara oral selama 45 hari dan 90 hari. Kelompok recovery hewan adalah pada kelompok pemberian 90 hari kemudian dipelihara selama dua minggu dan hanya diberi makan dan minum tanpa perlakuan. Jumlah hewan untuk *recovery* terdiri dari empat kelompok yaitu dosis besar dan akuades masing-masing jantan dan betina. Tujuan dari hewan coba dibiarkan hidup selama 2 minggu adalah untuk mengetahui apakah sifat toksik dari bahan uji yang digunakan bersifat *reversible*. Setelah waktu yang ditentukan, hewan dipuasakan

selama 18 jam. Pengamatan yang dilakukan dengan cara pengambilan darah sebanyak 1,5 cc untuk diperiksa kadar ureum dan kreatinin yang dilakukan di PPOMN Badan POM. Setelah darah diambil dilanjutkan dengan pengambilan organ ginjal untuk pembuatan preparat histopatologi. Sebelum diproses untuk pembuatan preparat, organ ginjal direndam dalam larutan buffer formalin 10% pada pot-pot plastik selama 2 minggu. Pembuatan preparat histopatologi organ ginjal dilakukan di Balai Penelitian Veteriner, Bogor. Kerusakan yang terjadi pada organ ginjal dilihat memakai mikroskop dengan perbesaran 10 sampai 40 kali. Analisa statistik untuk melihat pengaruh perlakuan antar kelompok menggunakan uji statistik dengan Anova

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol 70% daun kembang sungsang menghasilkan rendemen 19,05%. Hasil analisis kandungan ureum dan kreatinin dalam darah tikus percobaan setelah perlakuan sesuai dengan waktu pemberian

Tabel 1. Cara Pembagian Kelompok dan Lama Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Kembang Sungsang

Kelompok	Ekstrak etanol daun 70% kembang sungsang							
I	Lama pemberian 45 hari							
	Jantan (mg/100g bb)				Betina (mg/100g bb)			
	32,25	21,5	14,33	Akuades (ml)	32,25	21,5	14,33	Akuades (ml)
II	Lama pemberian 45 hari							
	Jantan (mg/100g bb)				Betina (mg/100g bb)			
	32.25	Akuades(ml)			32.25	Akuades (ml)		
III	Lama pemberian 90 hari dan didiamkan selama 2 minggu (Recovery)							
	Jantan (mg/100g bb)				Betina (mg/100g bb)			
	32.25	Akuades(ml)			32,25	Akuades (ml)		

Tabel 2. Rata-Rata Kadar Ureum dan Kreatinin Tikus Jantan dan Betina setelah Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Kembang Sungsang Selama 45 Hari

Dosis Pemberian Ekstrak (/100 g bb.)	Kadar Ureum (+ sd) mg/dl		Kadar Kreatinin (+ sd) mg/dl	
	Jenis kelamin tikus		Jenis kelamin tikus	
	Jantan	Betina	Jantan	Betina
Akuades	27,51 (2,87)	25,36 (3,69)	0,62 (0,06)	0,62 (0,03)
14,35 mg	27,52 (3,29)	24,38 (7,40)	0,67 (0,10)	0,66 (0,080)
21,5 mg	28,43 (7,01)	37,6 (14,97)	0,67 (0,10)	0,76 (0,11)
32,25 mg	66,9 (41,05)	35,70 (93,51)	0,75 (0,11)	0,65 (0,05)

Keterangan : Angka dalam tabel dengan huruf tebal (bold) menunjukkan nilai diatas normal

Tabel 3. Rata-Rata Kadar Ureum dan Kreatinin Tikus Jantan dan Betina setelah Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Kembang Sungsang Selama 90 Hari

Dosis Pemberian Ekstrak (/100 g bb.)	Kadar Ureum (+ sd) mg/dl		Kadar Kreatinin (+ sd) mg/dl	
	Jenis kelamin tikus		Jenis kelamin tikus	
	Jantan	Betina	Jantan	Betina
Akuades	23,62 (1,45)	19,6 (8,53)	0,59 (0,05)	0,58 (0,02)
14,35 mg	27,49 (4,04)	24,38 (3,26)	0,59 (0,0-5)	0,57 (0,05)
21,5 mg	26 (2,35)	76,77 (14,42)	0,58 (0,02)	37,6 (3,43)
32,25 mg	24,76 (1,17)	56,4 (62,96)	0,55 (0,04)	0,75 (0,23)

Keterangan : Angka dalam tabel dengan huruf tebal (bold) menunjukkan nilai diatas normal.

perlakuan, dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3.

Pemberian ekstrak etanol 70% daun kembang sungsang selama 45 hari pada tikus jantan dosis 32,25 mg/100 g bb. menyebabkan kadar ureum dan kreatinin meningkat kemudian menurun pada pemberian 90 hari. Pada kelompok tikus betina dosis 32,25 mg dan 21,5 mg, kadar ureum semakin meningkat seiring dengan lamanya pemberian bahan uji. Kelompok dosis 14,35 mg dan akuades kadar ureum sampai pemberian minggu ke 12 (90 hari) cenderung menurun dan masih dalam batas nilai normal (Tabel 4). Secara statistik terlihat ada perbedaan nyata ($p>0,05$) antara kelompok dosis 32,25 mg dengan ketiga kelompok dosis lainnya. Sementara pada

ketiga dosis lainnya tidak terlihat ada perbedaan ($p<0,05$). Sedangkan pada kelompok dosis 14,35 mg dan akuades kadar ureum tidak berbeda nyata ($p<0,05$). Pada Tabel 2. terlihat hasil pemeriksaan ureum dan kreatinin untuk tikus jantan, terdapat kenaikan kadar ureum diatas batas normal pada seluruh kelompok, untuk kreatinin masih dalam batas nilai normal pada semua kelompok perlakuan. Hasil pemeriksaan kandungan ureum dan kreatinin pada tikus betina pada semua kelompok perlakuan mengalami kenaikan diatas nilai normal sedangkan kadar kreatinin mengalami naik hanya pada dosis 32,25 mg/100 gram bb.

Pengamatan sampai dengan 90 hari perlakuan (minggu ke-12), kadar kreatinin

baik pada kelompok jantan maupun betina cenderung menurun pada semua kelompok perlakuan. Secara statistik tidak ada perbedaan nyata antara kelompok perlakuan ($p>0,05$).

Pengamatan Masa Recovery

Hasil uji recovery dimana tikus jantan setelah diberi perlakuan dosis 32,25 mg dan akuades serta untuk tikus betina dengan perlakuan dosis 14,35 mg dan akuades. Kemudian didiamkan selama 2 minggu dapat dilihat pada Tabel 5.

Pengamatan pada masa recovery bertujuan untuk melihat pengaruh bahan uji masa pemulihan. Kadar ureum kelompok tikus jantan 24.92 (± 4.55) mg/dl dan tikus betina 22.58(± 2.5) mg/dl. Kadar kreatinin pada kelompok tikus jantan adalah 0.63 \pm 0.03) mg/dl dan tikus betina adalah 0.57 (\pm 0.03) mg/dl. Secara statistik tak terlihat ada perbedaan antara kelompok perlakuan sampai masa pemulihan. ($p>0,05$).

Secara menyeluruh, pemberian berulang selama 90 hari daun kembang sungsang berpengaruh terhadap peningkatan kadar ureum pada dosis 32,25 mg dan 21,5 mg baik pada tikus jantan maupun betina.

Namun demikian pada masa pemulihan (recovery) pada dosis 32,25 mg kondisinya kembali normal. Dari informasi diatas ternyata pemberian secara berulang sampai dengan masa pemulihan, tidak berpengaruh terhadap kadar ureum maupun kreatinin yang artinya dapat dikatakan tidak mempengaruhi fungsi ginjal

Histopatologi Organ Ginjal Tikus

Hasil pemeriksaan kadar ureum dan kreatinin berkaitan dengan pemeriksaan organ ginjal adalah untuk melihat adanya kelainan fungsi ginjal. Pemberian ekstrak etanol 70% daun kembang sungsang selama 45 hari, 90 hari dan 104 hari terhadap organ ginjal dan kadar ureum dan kreatinin terlihat bahwa pada pemberian selama 45 dan 90 hari meningkatkan kadar ureum, baik pada kelompok jantan maupun betina. Sedangkan, kadar kreatinin tidak terjadi peningkatan. Dari pemeriksaan organ ginjal pada 45 hari perlakuan terjadi nephritis yang ditandai dengan infiltrasi sel radang limfosit pada tubulus atau glomerulus. Beberapa ditemukan pendarahan pada beberapa hewan pada semua kelompok. Begitu pula, selama 90 hari umumnya berupa gangguan sirkulasi darah

Tabel 4. Nilai Rata-Rata Normal Kadar Ureum dan Kreatinin Tikus Jantan dan Betina

Jenis kelamin	Ureum	Kreatinin
	(\pm sd) mg/dl	(\pm sd) mg/dl
Jantan	11,01 – 19,9	0,33 – 0,59
Betina	9,65 – 17,95	0,37 – 0,65

Tabel 5. Rata-Rata Kadar Ureum dan Kreatinin Tikus Jantan dan Betina setelah Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Kembang Sungsang selama Masa Recovery (104 Hari)

Dosis (/100 g bb.) Jenis kelamin	Kadar Ureum (\pm sd) mg/dl		Kadar Kreatinin (\pm sd) mg/dl	
	Jantan	Betina	Jantan	Betina
Kembang sungsang 32.25 mg	24.92 (4.55)	22.58 (2.5)	0.63 (0.03)	0.57 (0.03)
Akuades	28.27 (3.6)	25.96 (4.04)	0.60 (0.06)	0.62 (0.04)

atau perdarahan ringan sampai sedang. Sementara pada beberapa ginjal memperlihatkan adanya peradangan/infiltrasi sel-sel limfosit secara fokal (fokal nephritis) dengan derajat ringan. Hasil uji statistik dengan anova terlihat ada perbedaan pada kelompok perlakuan ($P 0,05$).

Hasil pemeriksaan histopatologi organ ginjal masa recovery tikus, kadar ureum seluruh kelompok perlakuan di atas normal sedangkan kadar kreatinin masih dalam batas normal, hal ini terlihat pada pemeriksaan ginjal umumnya berupa gangguan sirkulasi darah atau perdarahan ringan sampai sedang. Sementara pada beberapa ginjal memperlihatkan adanya peradangan atau infiltrasi sel-sel limfosit secara fokal (fokal nephritis) dengan derajat ringan. Dari uji statistik dengan Anova tidak terlihat ada perbedaan antara kelompok perlakuan pada $P 0,05$. Dengan tidak konsistennya hasil pemeriksaan biokimia darah dengan patologi organ ginjal, kemungkinan kelainan yang terjadi bukan karena akibat pemberian bahan uji.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol 70% daun kembang sunsang sampai dengan dosis 32,25 mg/100g bb terus menerus secara

oral selama 12 minggu dan sampai dengan masa pemulihan tidak menunjukkan adanya kelainan pada fungsi ginjal.

DAFTAR RUJUKAN

1. L.S. de Padua. N Bunyapraphatsura. R.H. J Lemmens : Resources of South East Asia No.12 (1). Prosea Foundation Bogor. 289 – 292. 1999.
2. Pudjiastuti dan kawan kawan. Penelitian pengembangan daun kembang sunsang (*Gloriosa superba* L.) kearah fitofarma gout (Hiperurisemia). Tahap ke II Laporan Akhir Pulitbang Farmasi dan OT Badan Litbang Kesehatan Departemen Kesehatan RI., 2005.
3. WHO; Research Guidelines for Evaluation the Safety and Efficacy of Herbal Medicinal. Manila., 1993.
4. Hayes. A.W., Principles and methods of Toxicology. Raven Press. Book Ltd. New York . 1984.
5. Anonim; Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Badan POM Departemen Kesehatan RI., 2000.
6. Brij M. Mituka. Howard M Rawnsley.; Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals normal rat and normal humans. Distributeb by New Year Book Medical Publishers Inc. 35 East Wacker Drive. Chicago. 1981.